Münster 1935 No 62 Med DiSS

Aus dem Hygienischen Institut
der Westf. Wilhelms-Universität zu Münster (Westf.)
Direktor: Professor Dr. K. W. Jötten.

Versuche zur Differenzierung des Oxydationswertes bei der Untersuchung organischer Wasserverunreinigungen.

INAUGURAL-DISSERTATION
ZUR ERLANGUNG DER
ZAHNÄRZTLICHEN DOKTORWÜRDE
DER HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT DER
WESTFÄLISCHEN WILHELMS-UNIVERSITÄT
ZU MÜNSTER (WESTF.)

vorgelegt von

Karlheinz Geck, Zahnarzt
aus Herne i. Westf.

1934

Gedruckt in der Dissertationsdruckerei Robert Kleinert, Quakenbrück.

Referent: Professor Dr. Fr. Sartorius.
Korreferent: Professor Dr. K. W. Jötten.
Dekan: Professor Dr. Klinge.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Westf. Wilhelms-Universität zu Münster (Westf.)

Bei der Untersuchung eines Wassers auf seine Verwendbarkeit als Trinkwasser hat sich als erfahrungsgemäß nützliches Kennzeichen unter anderem besonders die Bestimmung der organischen Substanz in der Untersuchungspraxis eingebürgert. Wir fußen dabei für die Beurteilung auf der allgemeinen Vorstellung, daß einerseits ein gewisser Reichtum an zersetzungsfähigen Stoffen auf nicht genügende Reinigungs- und Filtrationskraft des Bodens hinweisen kann, daß andererseits im Gefolge einer solchen Anreicherung des Wassers auch Keimzufuhr und Keimvermehrung sich hygienisch weit ungünstiger gestalten dürften.

Unter dem Begriff der „organischen Verunreinigung" wird dabei im allgemeinen jegliche Verunreinigung tierischer, pflanzlicher oder sonstiger Art, kurz jedmögliche Art von Verunreinigung, die als organische aufzufassen ist, zusammengefaßt. Nun haben über diese allgemeinen Anhaltspunkte hinaus aber schon verschiedene Autoren, neuerdings Horowitz-Wlassowa, Keiser und andere darauf hingewiesen, daß vom sanitären Standpunkt aus die verschiedenen Arten von organischen, zersetzungsfähigen Stoffen durchaus nicht als gleichwertig zu betrachten sind.

Derselbe Oxydationswert — etwa bei der altbekannten Bestimmung mittels $KMnO_4$ —, der im einen Falle durch einen bestimmten Harnstoffgehalt hervorgerufen wird, kann im anderen Falle etwa durch gewisse Humussäuren oder ähnliches bedingt werden. Während im ersteren Falle das Wasser durchaus als verdächtig angesprochen werden muß, ist das gleiche bei einem Gehalt des Wassers an letzteren Stoffen noch nicht unbedingt zu sagen. Etwa den gleichen Gedankengang finden wir in einem Zitat von R. Schmidt, das wir der Arbeit von Alfons Kaeß entnehmen: „Die Menge des reduzierten Permanganats läßt nur im allgemeinen einen Schluß zu auf die Menge der im Wasser vorhandenen organischen Stoffe, da die verschiedenen Arten organischer Substanz nicht immer gleichviel Kaliumpermanganat verbrauchen. Es werden deshalb durch die gleiche Menge redu-

zierten Permanganats in verschiedenen Wässern nur dann gleiche Mengen organischer Substanz angezeigt, wenn diese darin in gleichartigem Gemisch enthalten sind".

Horowitz-Wlassowa kommt ähnlich wie Keiser zu dem Schluß, daß die Oxydierbarkeitsbestimmungen zur Qualitätsbewertung eines Wassers in bezug auf organische Stoffe allein nicht ausreichen, da vor allem stickstoffhaltige Substanzen in nicht genügendem Maße erfaßt werden. Als Ergänzung zur Oxydationswertbestimmung wird daher von verschiedenen Autoren die Bestimmung der Chlorzahl empfohlen. Während Keiser aus der Tatsache, daß die Oxydierbarkeit durch Permanganat dem Chlorverbrauch eines Wassers nicht parallel geht, glaubt, „durch Bestimmung der Chlorzahl in Verbindung mit der Oxydierbarkeit ein besseres und wertvolleres Urteil über die Beschaffenheit eines Wassers" gewinnen zu können, weist E. Barth auf die außerordentliche Kompliziertheit beim Vergleich der beiden verschiedenen Methoden hin. Er sagt, daß das Verhältnis des Chlorbindungsvermögens des Wassers zu seinem $KMnO_4$-Verbrauch zum Teil noch nicht geklärt ist. Aus der Tatsache, daß bei den beiden Verfahren der Sauerstoff auf ganz verschiedene Weise in Freiheit gesetzt wird, folgt, daß es schon deshalb kaum möglich ist, die Oxydationswirkung von Chlor und vom Permanganat miteinander in Parallele zu setzen. Der Autor weist unter anderem darauf hin, daß „bei Abwässern mit ihrem Gehalt an den verschiedenen organischen Substanzen überhaupt kein Vergleich möglich" ist; hier sei das Verhältnis von Chlorzahl und Sauerstoffverbrauch völlig regellos.

Zweck dieser Arbeit soll es nun sein, den Sammelbegriff der „organischen Verunreinigung" einer Differenzierung zuzuführen. Es kommt uns hierbei nicht auf eine Differenzierung im hygienischen Sinne, also in bezug auf die Schädlichkeit bzw. Unschädlichkeit der Verunreinigung an; über diese Begriffe dürfte Klarheit herrschen. Wir streben vielmehr eine Differenzierung in methodischem Sinne an, d. h. wir wollen versuchen, bestimmte Methoden aufzuzeigen, die es gestatten, in möglichst einfach auszuführender Weise eine Differenzierung des erwähnten Sammelbegriffes durchzuführen.

Wir sind bei der Ausführung unserer Versuchsreihen ausgegangen von dem Gedanken, daß jedem verunreinigenden Stoffe ein bestimmter „Eigenoxydationswert" zugehört, der bei der Bestimmung des „Gesamtoxydationswertes" gewissermaßen als Komponente eben dieses Gesamtoxydationswertes zu bemessen ist.

Unsere Versuche sollten uns zunächst Klarheit darüber schaffen, ob und in welcher Weise verschiedene Stoffe in reiner Form, die in ihren verschiedenartigen Gemischen den Begriff der „organischen Verunreinigung“ ausmachen, einen verschiedenen Oxydationswert bedingen. Als Grundlage zu allen Versuchen dieser Gruppe diente uns die bekannte Oxydationsmethode mit $KMnO_4$ nach Kubel-Tiemann. Um eine gewisse Vorstellung über die Geschwindigkeit der Oxydation der einzelnen Stoffe bei 100° zu haben, hat Horowitz-Wlassowa bei seinen Untersuchungen die Verhältniszahlen der Werte der zweistündigen Kubelschen Probe zu Werten der klassischen Zehn-Minuten-Probe errechnet. Der Autor sagt, daß die Deutung dieses Koeffizienten gewissen Schwierigkeiten begegnet, da niedere Werte ebenso auf die rasche Oxydation während der ersten zehn Minuten des Versuchs zurückgeführt werden könnten wie auf eine langsame Oxydation während einer zweistündigen Zeitspanne. Um nun nicht nur darüber ein Bild zu bekommen, wie der Oxydationsablauf sich innerhalb einer gewissen Zeitspanne nach Einwirken des Kaliumpermanganats verhält, sondern auch darüber, welche Verschiedenheit innerhalb des Oxydationswertes selbst bei Einwirkung in der Kälte und in der Hitze eintreten, haben wir die Untersuchungen nach ganz bestimmtem Schema auf folgende Weise vorgenommen.

Alle Versuche wurden nach Art der bekannten 10 Minuten-Kubelprobe angesetzt. Dann wurde das Einwirken von $KMnO_4$ in zwei parallel laufenden Versuchsreihen geprüft, und zwar

1. in der Kälte nach 10 Minuten Einwirkungsdauer,
   „ 4 Stunden „
   und „ 24 „ „
2. in der Hitze nach 10 Minuten Einwirkungsdauer,
   „ 4 Stunden „
   und „ 24 „ „

In bezug auf die Versuchsmethodik ist noch zu bemerken, daß die Gefäße während der 4 bezw. 24stündigen Einwirkungsdauer dunkel gehalten wurden, um einen eventuellen Einfluß des Lichtes auf die empfindliche Kaliumpermanganatlösung auszuschalten. Ferner ist zu den in der Hitze ausgeführten Versuchen noch zu sagen, daß die zu untersuchenden Proben vor und nach der 4 bzw. 24stündigen Einwirkungszeit jeweils 10 Minuten gekocht wurden. Außerdem soll auch auf eine Tatsache hingewiesen werden, die Horowitz-Wlassowa erwähnt, nämlich die, daß

der Verdünnungsgrad des oxydierbaren Stoffes die Oxydabilität in nicht geringer Weise beeinflußt: „Es ergibt die Probe für dieselbe Menge des beliebigen oxydierbaren Stoffes größere Werte, wenn der Versuch mit mehr verdünnten Lösungen angestellt wird".

Aus der an sich sehr großen Menge von Stoffen, deren Untersuchung bedeutungsvoll und lohnend ist, haben wir folgende Auswahl getroffen:

1. Harnstoff
2. Indol
3. Alanin
4. Rohrzucker
5. Traubenzucker
6. Stärke
7. Pepton
8. Gerbsäure
9. Mischharn
10. Kotaufschwemmung
11. Verschiedene Wasserproben
12. Infusion trockener Blätter
13. Infusion frischer Blätter
14. Huminsäure.

Um einen Ueberblick zu haben, in welchen Konzentrationen von den einzeinen Stoffen etwa gleiche Oxydationswerte erzielt werden, hatten wir die zu untersuchenden Lösungen so eingestellt, daß alle etwa dem gleichen Oxydationswert von 2,5 ccm verbrauchtem $KMn0_4$ bei Ausführung der 10 Minuten-Kubelprobe in der Hitze entsprachen. Es ergaben sich hierbei die Konzentrationen der einzelnen Stoffe wie folgt:

1.	Harnstoff	1 %
2.	Indol	0,001 %
3.	Alanin	0,15 %
4.	Rohrzucker	0,028 %
5.	Traubenzucker	0,029 %
6.	Stärke	0,042 %
7.	Pepton	0,011 %
8.	Gerbsäure	0,008 %
9.	Mischharn	0,69 %
10.	Kotaufschwemmung	0,69 %

11. Wasserproben	0,83	ccm auf 100 ccm aqua dest.
	0,86	„ „ 100 „ „ „
	0,93	„ „ 100 „ „ „
	1,49	„ „ 100 „ „ „
12. Infusion trockener Blätter	1,3	„ „ 100 „ „ „
13. Infusion frischer Blätter	0,023	„ „ 100 „ „ „
14. Huminsäure	0,625 %	

Eine in verschiedenen Handbüchern zu findende Regel besagt, daß die Menge der organischen Stoffe im Wasser durch Multiplizierung der Werte der Kubelschen Probe mit 20 zu errechnen sei. Die oben angeführten Zahlen zeigen uns aber in eindeutiger Weise, daß sich die verschiedenen organischen Substanzen bei Ausführung der Kubelschen Probe auch ganz verschieden verhalten. Schon allein aus dieser Tatsache scheint uns die Anwendung der empfohlenen Regel ziemlich unbegründet; sie müßte ohne weiteres zu irrigen Schlüssen führen.

Die Herstellung der zu untersuchenden Lösungen bereitete bei den reinen Stoffen (1—8) keine besonderen Schwierigkeiten. Zur Herstellung der anderen Lösungen sei kurz folgendes bemerkt:

Mischharn: An vier verschiedenen Tageszeiten wurden Proben von 50 ccm entnommen. Zur Vermeidung einer Zersetzung wurde das Gemisch mit Thymol fixiert.

Kotaufschwemmung: 1 g Hammelkot wurde mit 10 ccm aqua dest. aufgeschwemmt, 10 Minuten zentrifugiert und vorsichtig das Ueberstehende abgehebert.

Wasserproben: Die Proben wurden aus verschiedenen Gräben und Tümpeln entnommen.

Infusion trockener und frischer Blätter: 100 g trockener bzw. frischer Blätter wurden 3 Tage bei Zimmertemperatur in 2 l Wasser ausgezogen und dann abfiltriert.

Huminsäure: Es stand uns das Originalpräparat „Acidum huminicum“ von Merk zur Verfügung. Die Herstellung wurde nach der Vorschrift von Odén vorgenommen: 0,8 g Acidum huminicum wurden 24 Stunden mit 10 ccm einer 0,2 n NaOH extrahiert, dann auf 200 ccm aufgefüllt. Nach 5 Stunden (Originalvorschrift: 10 Stunden) zentrifugieren in einer Zentrifuge von 2500 Touren wurde vorsichtig abgehebert und untersucht.

Nun zu den Versuchsergebnissen selber. Wir lassen zunächst die Oxydationswerte der einzelnen untersuchten Stoffe in Tabellenform folgen. Dabei entsprechen die Werte dem weiter vorn angegebenen Schema. Wir finden also zunächst die Werte der in der Kälte und die Werte der in der Hitze angestellten Versuche. Die Zahlenwerte geben direkt die bei Anstellung der Versuche verbrauchte Menge einer n/100 Kaliumpermanganatlösung in ccm an; die darauf folgende Tabelle gibt die direkt verbrauchte Menge $KMnO_4$ in mg an.

Stoff	Kalt			Heiß			
	10 Min.	4 Std.	24 Std.	10 Min.	4 Std.	24 Std.	
1. Harnstoff	0,7	1,5	2,05	2,5	5,9	8,65	ccm n/100
2. Indol	1,5	3,0	3,7	2,7	5,6	6,65	$KMnO_4$
3. Alanin	1,3	1,8	2,7	2,55	4,85	5,1	
4. Rohrzucker	1,4	1,95	2,5	2,7	6,4	7,05	
5. Traubenzucker	1,5	2,3	2,7	2,6	5,1	6,8	
6. Stärke	1,4	2,1	2,9	2,7	7,5	8,25	
7. Pepton	1,1	1,3	2,1	2,6	3,3	3,6	
8. Gerbsäure	1,5	1,6	2,4	2,7	4,0	4,2	
9. Mischharn	1,8	2,4	2,75	2,7	6,5	6,7	
10. Kotaufschwem.	2,0	3,1	3,4	2,6	5,0	7,15	
11. Wasserproben:							
a) 0,83	1,7	2,1	2,3	2,6	4,4	4,5	
b) 0,86	1,7	2,0	2,3	2,5	4,5	4,6	
c) 0,93	1,4	1,5	1,7	2,5	3,4	3,9	
d) 1,49	0,9	1,3	1,5	2,4	3,6	3,75	
12. Infusion trocken. Blätter	0,8	0,9	1,1	2,4	3,6	5,3	
13. Infusion frischer Blätter	1,3	1,4	1,45	2,4	4,2	5,6	
14. Huminsäure	0,5	1,0	2,2	2,7	4,3	5,45	

Stoff	Kalt 10 Min.	Kalt 4 Std.	Kalt 24 Std.	Heiß 10 Min.	Heiß 4 Std.	Heiß 24 Std.	
1. Harnstoff	0,22	0,47	0,65	0,79	1,86	2,73	mg
2. Indol	0,47	0,95	1,17	0,85	1,77	2,10	$KMnO_4$
3. Alanin	0,41	0,57	0,85	0,81	1,53	1,61	
4. Rohrzucker	0,44	0,62	0,79	0,85	2,02	2,23	
5. Traubenzucker	0,47	0,73	0,85	0,82	1,61	2,15	
6. Stärke	0,44	0,66	0,92	0,85	2,37	2,61	
7. Pepton	0,35	0,41	0,66	0,82	1,04	1,14	
8. Gerbsäure	0,47	0,51	0,76	0,85	1,26	1,33	
9. Mischharn	0,57	0,76	0,87	0,85	2,05	2,12	
10. Kotaufschwem.	0,63	0,98	1,07	0,82	1,58	2,26	
11. Wasserproben:							
a) 0,83	0,54	0,66	0,73	0,82	1,39	1,42	
b) 0,86	0,54	0,63	0,73	0,79	1,42	1,45	
c) 0,93	0,44	0,45	0,54	0,79	1,07	1,23	
d) 1,49	0,28	0,41	0,45	0,76	1,14	1,19	
12. Infusion trocken. Blätter	0,25	0,28	0,35	0,76	1,14	1,68	
13. Infusion frischer Blätter	0,41	0,44	0,46	0,76	1,33	1,77	
14. Huminsäure	0,16	0,32	0,70	0,85	1,36	1,72	

Bezüglich dieser Versuchsergebnisse ist zunächst ersichtlich, daß erwartungsgemäß alle Werte bei Einwirkung in der Kälte niedriger liegen als bei den Kochversuchen; ferner, daß sich die Werte bei längerer Einwirkung des $KMnO_4$ zum Teil bedeutend steigern. Auffallend in bezug auf die Konzentration der einzelnen untersuchten Stoffe ist ferner noch, daß bei etwa gleichem Oxydationswert Harnstoff mit 1 % die höchste und Indol mit 0,001 % die niedrigste Konzentration aller Stoffe anzeigen. Wir finden

hier eine von E. B a r t h erwähnte Tatsache bestätigt, die besagt, daß Harnstoff nur wenn er in großen Mengen im Wasser vorhanden ist, den Sauerstoffverbrauch beim $KMn0_4$-Verfahren steigert. Selbst bei Anwesenheit sehr großer Mengen von Harnstoff ist der Sauerstoffverbrauch zwar gering, immerhin aber sicher nachweisbar.

Die angeführten Werte zeigen uns also die „Eigenoxydationswerte" der einzelnen Stoffe an, die unserer Meinung nach, wie bereits erwähnt in dem „Gesamtoxydationswert" bei organischen Verunreinigungen als Komponente enthalten sind.

Abgesehen von der Konzentrationsfrage ist bei dieser Versuchsreihe die Beobachtung des V e r l a u f s t y p s der Reaktion bei den einzelnen Stoffen äußerst interessant und aufschlußreich. Wenn wir nur die einfache Größe des Oxydationswertes betrachten, so können wir daraus fast keinen Schluß auf die Konzentration oder Art des verunreinigenden Stoffes ziehen, während uns dagegen der V e r l a u f s t y p einzelner Reaktionen in etwa schon solche Schlüsse gestattet. Es lassen sich aus der ersten Tabelle gewisse charakteristische Reaktionsabläufe herauslesen, die für die Unterscheidung der Art der einzelnen Stoffe von Wichtigkeit sind. So ist z. B. das rasche Ansteigen der Kochwerte beim Indol sehr auffallend (2,7—5,6—6,65), das wir in fast gleicher Weise bei den Heißwerten der Kotaufschwemmung wiederfinden (2,6—5,0—7,15). Aehnliche Verhältnisse treffen wir bei den Werten für Harnstoff (2,5—5,9—8,65) und Mischharn (2,7—6,5—6,7) an. Es läßt sich daraus der folgende, nicht unbedeutende Schluß ziehen: Haben wir ein verdächtiges Wasser, bei dem wir ähnlich gestaltete Verhältnisse antreffen, so können wir daraus, falls Zucker und Stärke ausgeschlossen werden können (s. sp.), evtl. auf Verunreinigungen durch Fäkalien oder Harn schließen. Die endgültige Feststellung, ob sich tatsächlich Harnstoff, Indol oder ähnliches in dem zu untersuchenden Wasser befindet, läßt sich dann unschwer durch andere Methoden ermitteln.

Es sei kurz erwähnt, daß ähnliche Anhaltspunkte sich aus dem Vergleich der Werte für die Zucker und Stärke gegenüber Pepton und den Wasserproben ergeben. Zucker und Stärke zeigen schnell ansteigende, Pepton und die Wasserproben dagegen bedeutend langsamer steigende Kochwerte.

Wir heben also in bezug auf diese Versuchsreihe nochmals hervor, daß neben der reinen Größe des Oxydationswertes der über längere Zeit zu beobachtende V e r l a u f s t y p der Reaktion besondere Beachtung verdient.

Da wir aber auf diese Weise nicht zu einer genügend weiten Differenzierung des „Gesamtoxydationswertes“ gelangen können, haben wir uns bemüht, durch eine im Folgenden skizzierte andere Methode zu einer weiteren und umfassenderen Differenzierung zu gelangen. Es war dabei unser Ziel, nach Möglichkeit solche Methoden bzw. Reaktionen aufzuzeigen, welche als Hilfsreaktionen ein weiteres über das Vorliegen der einen oder anderen Stoffart aussagen können.

So lag es z. B. nahe, die Lebensfähigkeit heterotropher Bakterien in dem fraglichen Milieu zu prüfen, um daraus Schlüsse über das Vorhandensein eines bestimmten Stoffes zu gewinnen. Wir bedienten uns dabei der Fähigkeit bestimmter lebender Bakterien, gewisse Farbstoffe zu farblosen Leukoprodukten zu reduzieren. Die Kenntnis dieser Tatsache benutzten wir zur Ausführung einer Zersetzungs- oder Reduktionsprobe, die wir auf folgende Weise ansetzten:

Jeweils 1 ccm des zu untersuchenden Stoffes wurde in sterile Röhrchen abgefüllt. Dazu kamen zur Förderung des Bakterienwachstums 3 ccm einer frisch sterilisierten modifizierten Nährsalzlösung nach Uschinsky. Ferner setzten wir 0,05 ccm einer 0,03prozentigen Methylenblaulösung und eine Oese von auf gewöhnlichem Agar gezüchteten Colibakterien zu. Um den Zutritt von Luftsauerstoff, bei dessen Anwesenheit ja keine Reduktion stattfindet, zu verhindern, überschichteten wir das Ganze mit Paraffinöl. Dann kamen die Röhrchen bei 37 ° in den Brutschrank. Die Ablesungszeiten lagen bei 6, 12, 24, 30, 48 Stunden und zeigten die in den folgenden Tabellen niedergelegten Resultate. Es bedeuten in den Tabellen:

Ø	nicht entfärbt
+	leicht entfärbt
++	stark entfärbt
+++	vollkommen entfärbt.

Zeit	Harnstoff	Indol	Alanin	Rohrzucker	Traubenzucker	Stärke	Pepton	Gerbsäure	Mischharn	Kotaufschw.
6 Std.	+	+	++	++	++	++	+++	++	++	++
12 Std.	++	++	+++	+++	+++	+++		+++	+++	+++
24 Std.	+++	++								
30 Std.		++								
48 Std.		+++								

Da uns nun die um 6 Stunden auseinanderliegenden Ablesungszeiten nicht gestatteten, genaue Uebergänge von der nicht entfärbten zur leicht, stark und vollkommen entfärbten Stufe festzustellen, wiederholten wir den Versuch bei stündlicher Ablesung. Das Ergebnis zeigt nachfolgende Tabelle an:

Stoff	1 St.	2 St.	3 St.	4 St.	5 St.	6 St.	12 St.	18 St.	24 St.	48 St.
Harnstoff	Ø	Ø	Ø	Ø	+	+	++	++	+++	
Indol	Ø	Ø	Ø	+	+	+	++	++	++	+++
Alanin	Ø	Ø	+	+	+	+	+			
Rohrzucker	Ø	Ø	Ø	Ø	+	++	+++			
Traubenzucker	Ø	Ø	Ø	+	++	++	+++			
Stärke	Ø	Ø	Ø	+	++	++	+++			
Pepton	Ø	Ø	+	++	++	+++				
Gerbsäure	Ø	Ø	Ø	+	++	++	+++			
Mischharn	Ø	Ø	Ø	Ø	+	++	+++			
Kotaufschwemmung	Ø	Ø	Ø	Ø	+	++	+			

Die Tabellen zeigen uns, daß durchweg nach 12 Stunden Aufenthalt im Brutschrank vollkommene Entfärbung eingetreten ist. Lediglich Harnstoff und Indol bilden auch hier wieder eine Ausnahme. Während sie bei den Oxydationsversuchen die höchste bzw. niedrigste Konzentration aller untersuchten Stoffe anzeigten, brauchen sie hier eine weit höhere Zeit, nämlich 24 bzw. 48 (!) Stunden bis zur vollkommenen Reduktion. Am auffallendsten jedoch ist das Verhalten von Indol gegenüber dem Pepton. Während Indol erst nach 48 Stunden entfärbt ist, zeigt sich beim Pepton schon nach 6 Stunden vollkommene Reduktion. Diese Tatsache kann bei einem Versuch der Differenzierung auf dem Wege der Reduktionsprobe zur einwandfreien Unterscheidung der beiden Stoffe dienen.

Durch eine weitere ähnliche Versuchsreihe, die sich grundlegend auf den durch W. Liese eingeführten Nitro-Antrachinon-Test stützt, versuchten wir ebenfalls, eine feinere Differenzierung zu ermöglichen. Liese benutzte zu seinen Versuchen die Tatsache der chemischen Zellatmung. Es kommt ihm darauf an, eine durch den von lebenden Bakterien freigemachten Sauerstoff eintretende Rotfärbung festzustellen, die auf Umwandlung des in wäßriger Lösung befindlichen Nitro-Antrachinons in rot gefärbtes Amidoantrachinon beruht. Die Empfindlichkeit dieser Reaktion gestattet sogar den Nachweis einzelner Colikeime im Wasser! Uns kam es aber auf eine andere Feststellung an. Wir haben versucht, ob und in wie weit bei bewußter Zugabe von Colibakterien, die also zwangsläufig eine Rotfärbung hervorrufen muß, in Anwesenheit verschiedener organischer Substanzen verschiedene Grade der Rotfärbung bedingt werden. Wir modifizierten daher die von Liese angegebene Methode wie folgt:

In sterilisierte Reagensgläser wurden zu 1 ccm des zu untersuchenden Stoffes in 1proz. Konzentration 3 ccm der sterilen modifizierten Uschinsky-Nährsalzlösung sowie 1 Oese Colibakterien gegeben. Darauf kamen die Röhrchen 20 Stunden bei 37° in den Brutschrank. Nach Zugabe von 0,5 ccm einer 1 : 50 verdünnten, frisch bereiteten Nitro-Antrachinonlösung folgte 4-stündiger Aufenthalt im Wasserbad bei 40°. Die untersuchten Stoffe zeigten danach folgende Rötungsgrade:

1. Harnstoff	+++
2. Indol	+
3. Alanin	+++
4. Rohrzucker	Ø

5.	Traubenzucker	Ø
6.	Stärke	Ø
7.	Pepton	+++
8.	Gerbsäure	++
9.	Mischharn	+++
10.	Kotaufschwemmung	++
11.	Huminsäure konz.:	weg. Eigenfarbe nicht wahrnehmb.
12.	„ 1:10	+
13.	„ 1:50	Ø
14.	Leitungswasser	Ø

Es bedeutet hierbei:

Ø = keine Rötung, Farbton wie Kontrollröhrchen

\+ = gerade wahrnehmbare, zart gelblich-rote Färbung,

++ = deutlich erkennbare, zart rote Färbung,

+++ = rote bis tief dunkelrote Färbung.

Es ist noch zu bemerken, daß die angesetzten Kontrollen (ohne Nitro-Antrachinon) alle negativ waren.

Das Bemerkenswerteste an dieser Versuchsreihe ist das gänzliche Ausfallen von Rohrzucker, Traubenzucker und Stärke, während die anderen Stoffe einen mehr oder minder hohen Rötungsgrad erkennen lassen. Es wäre in der Praxis also möglich, an Hand dieser Probe nachzuweisen, daß eine etwa vorhandene Wasserverunreinigung nicht von einem der genannten drei Stoffe herrühren kann.

Ein Vergleich des modifizierten Nitro-Antrachinon-Tests mit der Reduktionsprobe zeigt uns die Ungleichheit der beiden Proben in bezug auf ihre Versuchsergebnisse. Während Harnstoff, Indol und Pepton durch die Reduktionsprobe einer eingehenden Differenzierung zugeführt werden können, fallen die Zuckerarten und Stärke für diesen Zweck bei der erwähnten Probe aus. Dafür haben wir aber im modifizierten Nitro-Antrachinon-Test ein wichtiges Mittel, Zucker und Stärke durch ihr negatives Verhalten ganz scharf gegenüber den anderen untersuchten Stoffen abzugrenzen.

Im übrigen sei kurz noch auf eine Analogie zu den Oxydationsversuchen verwiesen: Harnstoff-Mischharn und Indol-Kotaufschwemmung zeigen auch hier eine auffallende Uebereinstimmung der Versuchsergebnisse!

Im Verlauf unserer Untersuchungen gelangten wir zu der Ansicht, daß es von Wichtigkeit sei, durch einfach auszuführende chemische Farbreaktionen auf schnellste Weise die eine Verunreinigung bedingenden Stoffe qualitativ zu bestimmen. Die Grenzwerte der im einzelnen später zu besprechenden Reaktionen sind folgende:

1.	Harnstoff	1 %
2.	Indol	0,00001 %
3.	Alanin	0,008 %
4.	Rohrzucker	0,1 %
5.	Traubenzucker	0,1 %
6.	Stärke	0,008 %
7.	Pepton	0,008 %
8.	Gerbsäure	1 %
9.	Huminsäure	keine Farbreaktion auffindbar!

Nun zu den ausgeführten Reaktionen selbst:

1 Harnstoff:

Der Nachweis wurde ausgeführt mit der Reaktion nach Ganassini: 5 Tropfen Furfurol werden in 2 ccm Alkohol (96 %) gelöst und diese Lösung mit 2 ccm Wasser und 1 ccm Salzsäure (1,19) versetzt. Es sollen sich mit einigen Tropfen dieses Reagenzes Spuren von Harnstoff purpurrot bis violett färben. Wir fanden den Grenzwert bei einer 1proz. Lösung.

2. Indol:

Nachweis mit dem Ehrlichschen Reagenz.

3. Alanin:

Nachweis mit der Ninhydrin-Probe. Ninhydrin ist das bekannte, von den Farbwerken vorm. Meister Lucius u. Brüning (Höchst a. Main) hergestellte Reagenz auf Eiweiß, Peptone, Polypeptide, Aminosäuren. Chemisch ist es ein Triketohydrindenhydrat. Die Probe wird auf folgende Weise angestellt: Zu 10 ccm des zu untersuchenden Stoffes fügt man 0,2 ccm einer 1proz. wässerigen Lösung von Ninhydrin. Nach Zugabe eines Siedestäbchens erhitzt man und hält die Lösung nach Auftreten der ersten Luftbläschen genau eine Minute im Sieden. Das Reagenz eignet sich zum Nachweis von abiureten Abbaustoffen aus Eiweiß, weil es mit allen Verbindungen die in α-Stellung zum

Carboxyl eine Aminogruppe tragen, eine Blaufärbung gibt. — Es ist zu bemerken, daß von allen von uns untersuchten Stoffen lediglich bei Alanin und Pepton eine Blaufärbung eintrat. Beide Grenzwerte lagen bei 0,008 %.

4. Rohrzucker:

Nachweis mit Nylanders Reagenz.

5. Traubenzucker:

Nachweis mit Nylanders Reagenz.

6. Stärke:

Nachweis mit Lugolscher Lösung.

7. Pepton:

Nachweis mit Ninhydrin.

Als Unterscheidung gegenüber dem Alanin sei noch eine weitere Reaktion angeführt:

Fittipaldis Reagenz zeigt bei Gegenwart von Albumosen oder Pepton einen orangegelben Ring. Das Reagenz ist eine Mischung gleicher Teile einer 5proz. Nickelsulfatlösung und konzentriertem Ammoniak. 5 ccm der zu untersuchenden Lösung versetzt man mit NaOH und schichtet darüber 4 ccm Reagenz. Der Grenzwert dieser Reaktion liegt bei 1 %.

8. Gerbsäure:

Nachweis mit der Grießmayerschen Reaktion.

Versetzt man eine gerbsäurehaltige Flüssigkeit mit soviel 1/100 normal Jodlösung, daß nach dem Schütteln noch Entfärbung eintritt, so genügt eine geringe Menge Alkali, um die Flüssigkeit brilliantrot zu färben.

9. Huminsäure:

Für Huminsäure ist, wie wir auch der sehr umfassenden und eingehenden Arbeit Odéns entnehmen, vorläufig noch keine einwandfreie chemische Farbreaktion auffindbar. Die qualitative Huminsäurebestimmung ist jedoch nach einigen Methoden Odéns durchführbar.

Während uns die Reaktionen in bezug auf ihre Grenzwerte bei Indol, Alanin, Stärke und Pepton durchaus genügen können, haben die Proben bei den anderen untersuchten Stoffen nur eine bedingte Eignung. Immerhin können wir auch hier für die Stoffe durch eventuelle Anreicherung oder kombinierte Anwendung verschiedener Methoden zu befriedigenden Resultaten gelangen.

Eine letzte Versuchsreihe würde dann noch zeigen, ob ähnlich wie beim Chlorbindungsvermögen die hier untersuchten Stoffe durch eine gewisse voneinander abweichende Jodbindung in gewisser Weise angezeigt werden können. Es handelt sich dabei lediglich zunächst um eine gewisse Orientierung auf diesem Gebiet. Die Versuchsanordnung war so, daß in einem 200 ccm Erlemeyerkolben 10 ccm der zu untersuchenden Lösungen auf 100 ccm mit aqua dest. aufgefüllt und mit 10 ccm n/100 Jod-Jodkaliumlösung versetzt wurden. Die Kolben wurden dann mit Gummistopfen fest verschlossen ins Dunkle gestellt und nach einstündiger Einwirkung das nicht gebundene Jod mit n/100 Thiosulfat titriert. Es ergab sich, daß auch hier einzelne Stoffe schon in sehr geringer Konzentration eine recht hohe Jodbildung aufgewiesen hatten, während bei gleichen anderen ein ähnlicher Jodbindungswert erst bei höherer Konzentration erreicht wurde.

Besonders auffallend war z. B. der Gegensatz zwischen Pepton und Indol einerseits, dem Harnstoff, Alanin, Rohrzucker andererseits. Die ersteren Stoffe gaben schon in 0,1 resp. 0,01 % je Lösung etwa ähnliche Jodbindungswerte wie die letzteren Stoffe erst in 1proz. Konzentration. Ebenso ergab interessanter Weise z. B. der konzentrierte Extrakt von frischen Blättern nur ein recht geringes Jodbindungsvermögen im Gegensatz zu den Extrakten trockener Blätter und ferner auch zu den Werten, die bei Huminsäureverdünnungen und Torfextrakten erzielt werden. Man dürfte also auch durch Ausarbeitung der hier vorliegenden Verhältnisse noch Anhaltspunkte für das Vorliegen der einen oder anderen Stoffart gewinnen, insbesondere im Zusammenhang mit Werten, die durch die vorher beschriebene Methode gewonnen werden. Allerdings ist auch hier zu betonen, daß das Jodbindungsvermögen nicht etwa streng proportional der Konzentration der jeweils vorgelegten Stoffart ist, sondern, daß das Jodbindungsvermögen im Verlauf der verschiedenen Konzentrationen eines Stoffes bei der gegebenen Versuchsanordnung einem bestimmten Kurventypus folgt, der an sich wieder aufschlußreich ist. Auch muß wahrscheinlich beim Jodbindungsvermögen noch die Interferenz anderer Bindungen stärker beachtet werden, was natürlich spezielle weitere Versuche ergeben müssen. Hier kam es, wie gesagt, zunächst darauf an, prinzipiell die Möglichkeiten, die in den verschiedenen Jodbindungsvermögen gegeben sind, anhangsweise kurz zu erwähnen.

Zusammenfassung.

1. Es sollte der Begriff der „organischen Verunreinigung“ einer Differenzierung zugeführt werden.
2. a) Es wurden die „Eigenoxydationswerte“ bestimmter Stoffe festgestellt, um ihre Größe und Bedeutung als Komponente eines „Gesamtoxydationswertes“ kennen zu lernen.
   b) Bei der Bestimmung mittels $KMnO_4$ ist weniger der reine Oxydationswert maßgebend, als vielmehr der über eine längere Zeit zu beobachtende Verlaufstyp der Reaktion.
3. Es können weitere Rückschlüsse über die Natur des zu untersuchenden Stoffes aus gewissen in Vorschlag gebrachten Testen gezogen werden (Zersetzungsproben, modifizierter Nitro-Antrachinon-Test, chemische Farbreaktionen, Jodbindungsvermögen).

Bei Anstellung der Reduktionsprobe und des modifizierten Nitro-Antrachinon-Tests erwies sich der letztere prägnanter in seinen Auswirkungen für die Kennzeichnung bestimmter Stoffe als der erstere, insbesondere in bezug auf Zucker und Stärke. Auch das Jodbindungsvermögen, das keine strikte Beziehung zur Oxydationswertbestimmung durch $KMnO_4$ hat, kann gewisse Aufschlüsse über die Natur der zu untersuchenden Stoffe geben.

Am Schlusse meiner Arbeit ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. Friedrich Sartorius für die Ueberlassung des Themas sowie für viele wertvolle Anregungen in bezug auf Methodik und Ausführung der Versuche meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Literaturverzeichnis.

1. Barth, E.: Chlorbindungsvermögen und Kaliumpermanganatverbrauch von Wasser und Abwasser. Archiv für Hygiene, Bd. 104, 1930, S. 318.
2. Gärtner, Aug.: Die Hygiene des Wassers. Vieweg und Sohn, Braunschweig 1915.
3. Horowitz-Wlassowa, L. M., und Assistentinnen A. M. und F. M. Goldenberg: Zur Frage der chemiko-sanitären Wasseruntersuchung in bezug auf organische Stoffe. Archiv für Hygiene, Bd. 98, 1927, S. 234.
4. Kaehs, Alfons: Die Bestimmung der oxydablen Substanz im Wasser, Methodik und Beurteilung. Archiv f. Hygiene, Band 107, 1932, S. 42.
5. Keiser, K.: Beiträge zur Differenzierung der organischen Stoffe im Wasser. Archiv für Hygiene, Bd. 100, 1928, S. 40.
6. Liese, W.: Die chemische Zellatmung als Hilfsmittel der bakteriologischen Trinkwasseruntersuchung. Zentralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde, Bd. 124, 1932, S. 560.
7. Odén, Sven: Die Huminsäuren. Sonderausgabe aus „Kolloidchemische Beihefte", Bd. XI. Th. Steinkopff, Dresden u. Leipzig 1922.
8. Ohlmüller-Spitta: Untersuchung und Beurteilung des Wassers und Abwassers. Springer, Berlin 1931.
9. Poppe, Ed.: L'oxydation des matières organiques par le permanganate de potassium. Bull. de la Société chimique de Belgique. Mai 1910.
10. Wette, Hans: Chlorzahl und Chlorbedarf des Wassers. Archiv für Hygiene, Bd. 99, 1928, S. 143.
11. Weyl: Handbuch der Hygiene. Ambrosius Barth, Leipzig. 1919.

Lebenslauf.

Am 17. Oktober 1910 wurde ich als Sohn des Kaufmanns Heinrich Geck und seiner Frau Luise geb. Hohlmann zu Essen (Ruhr) geboren. Von Ostern 1917 bis Dezember 1918 besuchte ich die Vorschule des Heinecke-Realgymnasiums in Essen, von Januar 1919 bis Ostern 1920 die Vorschule in Herne. Darauf trat ich in die Sexta der Oberrealschule in Herne ein und bestand an dieser Anstalt im Februar 1930 das Abiturientenexamen. Anschließend widmete ich mich dem Studium der Zahnheilkunde an den Universitäten Marburg (Lahn) und Münster und verbrachte von den vorgeschriebenen 7 Semestern die ersten vier in Marburg, die restlichen drei in Münster. Nach dem dritten Semester bestand ich das zahnärztliche Physikum in Marburg, nach dem siebenten das Staatsexamen in Münster, beide mit dem Prädikat „gut“.